Aus der bakteriolog. Abteilung des Reichsgesundheitsamtes.
Direktor: Geh. Reg.-Rat Prof. Dr. Haendel.
Laboratoriumsvorsteher: Oberreg.-Rat Prof. Dr. L. Lange.

Untersuchungen über den Agglutinationsvorgang unter Verwertung des Agglutinationsoptimums.

Auszug aus der gleichbetitelten
Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung der Doktorwürde
der hohen medizinischen Fakultät der
Friedrich-Wilhelm-Universität zu Berlin

R. UNIV. BIBLIOTHEEK LEIDEN

von

Georg Heuer
approb. Arzt aus Göttingen.

Referent: Geh. Med.-Rat Prof. Dr. Czerny.
Tag der Promotion: 5. August 1921
Die Drucklegung ist seitens der Fakultät genehmigt.

94

Die bekannte Beobachtung, daß bei Verdünnungsreihen agglutinierender Seren bei hohen Serumkonzentrationen die Agglutination weniger ausgebildet ist als bei stärkeren Verdünnungen, also ein Agglutinationsoptimum in die Erscheinung tritt, wurde auf Anregung von Ober-Regierungs-Rat Prof. Dr. L. Lange von mir untersucht, ausgehend von dem Gedankengange, daß bei der Agglutination annähernd ähnliche Vorgänge mitspielen, wie sie für Lipoide in dem Meyer-Overtonschen Verteilungsgesetz zum Ausdruck kommen, wenn man für die Agglutinine eine lipoide Komponente annimmt, der bei der Einwirkung auf die Bakterienmembran die verknüpfende Rolle zugesprochen werden könnte.

Danach hätten die Agglutinine zum lipoidhaltigem Serum eine gewisse „Affinität", die bei zunehmender Verdünnung des Serums durch physiologische Kochsalzlösung abnimmt, so daß die Agglutinine um so mehr an die zur Agglutination gebotenen Bakterien herantreten können. Dieser Uebertritt an die Bakterien muß mehr oder weniger gehemmt werden, wenn als Verdünnungsmittel des spezifischen Serums normales Serum genommen wird.

Es wurden gut agglutinable Stämme von Typhus-, Paratyphus B-, Ruhr- und Pseudoruhrbazillen mit den entsprechenden Eselseren untersucht.

Als Verdünnungsmedien der spezifischen Eselsera wurden benutzt: physiologische Kochsalzlösung, verschiedene durch Karbolzusatz konservierte Normaltiersera, unverdünnt und in der Verdünnung mit physiologischer Kochsalzlösung 1 : 10 und 1 : 100.

Als Kontrollen dienten in allen Versuchen die jeweils verwendeten Verdünnungsmedien mit Zusatz der in dem Versuch zur Agglutination gebotenen Bakterien. Die Resultate wurden mit Hilfe des Agglutinoskops nach 60 Minuten bei 37°C im Brutschrank und nach 20 Stunden bei Zimmertemperatur abgelesen.

Um den störenden Einfluß der Normalagglutinine der als Verdünnungsmedien verwendeten Normalsera auszuschalten wurden Vorversuche angestellt.

Anfänglich wurde versucht, die Normalagglutinine der Normalsera durch Erwärmen auf 55° und 60° C auszuschalten. Die Erwärmung vermochte jedoch nicht die Normalagglutinine zum völligen Verschwinden zu bringen. Es traten noch Spuren einer Normalagglutination auf, die aber die Erkennung der Lage des Agglutinationsoptimums nicht hinderten. Ebensowenig vermochte eine Behandlung der Normalsera mit Kieselgur und mit Prodigiosusbazillen die Normalagglutinine völlig auszuschalten. Dagegen führte eine Abbindung der Normalsera mit den Bakterienstämmen, die nachher in dem spezifischen Serum, verdünnt mit dem so vorbehandelten Normalserum, zur Agglutination verwendet wurden, zur völligen Ausschaltung der Normalagglutinine. Neben dieser „homologen" gelang auch eine „heterologe" Absättigung der Normalsera, indem auch die Normalagglutinine für Paratyphus-B-Bazillen, Ruhr- und Pseudoruhr-Bazillen durch Typhusbazillen und umgekehrt abgesättigt wurden.

In allen Versuchen zeigte sich regelmäßig, deutlich durch die Größe der Agglutinationsballen und die Klärung der Suspensionsflüssigkeit, daß bei den verwendeten, gut agglutinablen Bakterienstämmen stets ein Agglutinationsoptimum zu erkennen ist. Wurde als Verdünnungsmedium physiologische Kochsalzlösung verwendet, so zeigte sich das Optimum der Agglutination bei den Konzentrationen 1 : 100 und 1 : 200 des spezifischen Serums. Bei Verwendung unverdünnter Normaltiersera als Verdünnungsmedium tritt eine Verschiebung des Optimums der Agglutination nach links in die Konzentration 1 : 10 und 1 : 20 des spezifischen Serums auf. Werden mit physiologischer Kochsalzlösung 1 : 10 und 1 : 100 verdünnte Normalsera als Verdünnungsmedien verwendet, so rückt das Optimum wieder nach rechts und tritt bei den Konzentrationen 1 : 20, 1 : 40 und 1 : 80 und 1 : 80, 1 : 100 und 1 : 200 in Erscheinung.

Eine Reversibilität des einmal eingetretenen Agglutinationsoptimums in der „unverdünnten Normal - Serum" - Reihe durch nachherigen Zusatz physiologischer Kochsalzlösung fand nicht statt.

Erhitzung und Entfettung der zur Agglutination verwendeten Bakterien hatte keinen Einfluß auf die Lage des Optimums. Besondere Versuche zeigten, daß die Lage des Optimums nicht von dem durch die verschiedenen Verdünnungsmedien bedingten Gehalt an Na Cl, ferner auch nicht von der H-Jonenkonzentration und der Oberflächenspannung der einzelnen Konzentrationen des spezifischen Serums in den durch die Verdünnungsmedien verschiedenen Reihen abhängt.

Die „Linksverschiebung" des Optimums bei Verwendung von Normalsera als Verdünnungsmedien und das allmähliche „Rechtsrücken" mit dem steigenden Gehalt des Verdünnungsmediums an physiologischer Kochsalzlösung hat sich als ein festes Gesetz erwiesen, da die Erscheinung unabhängig von der Art der verwendeten Normalsera und spezifischen Sera, und auch von der Art der Bakterien, sowie der verschiedenen Weise der Vorbehandlung der Normalsera und Bakterien regelmäßig auftritt.

Untersuchungen über die quantitativen Verhältnisse der Bindung des Agglutinins an die Bakterien gaben über die Erscheinung der je nach dem Verdünnungsmedium verschiedenen Lage des Optimums der Agglutination Aufschluß.

Das Optimum tritt nämlich bei denjenigen Serumverdünnungen auf, bei welchen — unter den gegebenen Verhältnissen — zum ersten Male 20/20 der — ebenfalls unter den gegebenen Verhältnissen, Verdünnungsmedium! — zur Verfügung stehenden Agglutinine gebunden sind.

Die Ursache der Hemmung der Agglutination in den höheren Serumkonzentrationen bei Verdünnung mit physiologischer Kochsalzlösung ist danach in einer Zurückhaltung der Agglutinine im Serum zu suchen. In dieser Kochsalzverdünnungsreihe hängt die Menge der jeweils für die Bakterien zur Verfügung stehenden Agglutinine ab von er absoluten Menge des Agglutinins und außerdem von der mit steigendem Kochsalzlösungsgehalt zunehmenden Abgabe der Agglutinine aus dem spezifischen Serum.

In der Reihe, in der normales Serum als Verdünnungsmedium dient und keine Hemmung der Agglutination in den höheren Konzentrationen auftritt, hängt die Menge des verfügbaren Agglutinins nur von dem Gehalt an spezi-

fischem Serum ab, daher ist in dieser Reihe auch ein ganz regelmäßiger Abfall der Agglutinationsgrade zu beobachten.

Die Zurückhaltung des Agglutinins durch das Serum fasse ich als die Folge eines Schutzkolloids im Serum auf. Als solches Schutzkolloid kommt das Albumin in Betracht, das als selbst gut stabiles, höher disperses Element der Eiweißlösung das labilere Globulin – Agglutinin gehört wie alle Antikörper zur Globulinfraktion -- in Lösung hält.

Da die geprüften Erscheinungen als einem allgemeinen Gesetz entsprechend festgestellt wurden, muß dieses Gesetz auch für alle übrigen Immunitätsreaktionen Geltung haben. Mit der Weiterverfolgung dieser Frage ist der Verfasser beschäftigt.

Druck von Louis Hofer G. m. b. H., Göttingen.